

学位授与番号	甲第 1651 号
学位授与年月日	平成 16 年 9 月 30 日
氏 名	Delgermaa Luvsanjav
学位論文題目	Subcellular Localization of RPB5-Mediating Protein and Its Putative Functional Partner (RPB5-Mediating Protein(RMP) の細胞局在と機能パートナー)
論文審査委員	主 査 教 授 金 子 周 一 副 査 教 授 山 本 博 教 授 福 田 龍 二

### 内容の要旨及び審査の結果の要旨

B 型肝炎ウイルス(HBV)の慢性感染は、肝細胞がんの高リスクファクターであり、HBV X(HBx) 蛋白の発がん性が疑われているが、直接的な証明やその分子機構は未だ明らかでない。HBx は多機能ウイルス制御因子であり、転写、DNA 修復、細胞死などの過程を修飾することが報告されている。HBx は、宿主標的である RNA ポリメラーゼサブユニット 5(RPB5)と相互作用し、活性化転写を修飾する。HBx の転写修飾作用に拮抗する新規の宿主因子として RPB5 mediating protein (RMP)が同定され、転写のコレプレッサー能が報告された(Dorjsuren D et al., Mol. Cell. Biol., 18:7546-7555 (1998))。

著者は、RMP の機能を更に解明する目的で、GFP 融合型の野性型及び各種の変異 RMP を作成し細胞内の局在を解析すると共に、酵母 two hybrid 法を用いて RMP と相互作用する因子の探索を行ない、同定された因子と RMP との機能的な関連を検討し、以下のような結果を得た。

1. RMP は殆どが細胞質に局在し、弱い瀰漫性のシグナルを核内に認めた。RMP の細胞内局在は、N 端側領域に存在するコイルドコイル(CC)ドメインと重複する細胞質局在シグナル(CLS)と C 端側領域に局在する核局在シグナル(NSL)の寄与によった。CC ドメインを欠損した変異 RMP は、NLS の存在に依存して核に局在した。RMP 中央部の RPB5-結合領域は、RMP の細胞内局在に影響を与えなかった。

2. 酵母 two hybrid 系を用いて RMP に相互作用する因子として、DNA メチルトランスフェラーゼ1 (DNMT1)に結合するコレプレッサー DMAP1 と RMP が重複して単離された。異なるタグ標識した2種類の蛋白を培養細胞で共発現させた結果、RMP の CC ドメインが DMAP1 と RMP の相互作用に必須であった。部分精製した蛋白を用いた in vitro 系で同様の結果を得た。

3. DMAP1 と GFP-RMP の共発現によって、RMP のシグナルは核内にのみ局在した。DMAP1 による RMP の核内局在には、RMP の NLS は必要ではなかった。DMAP1 の共存によって、量依存的に RMP のコレプレッサー活性は増強した。この効果には、CC ドメインが必須であった。RMP の共発現は、GFP-RMP の細胞内局在には影響を与えなかった。

4. 最近報告された RMP より N 端側に51アミノ酸残基長い URI の細胞内局在を検討した。URI は特異的に DMAP1 と相互作用し、殆どが細胞質に局在する GFP-URI のシグナルは DMAP1 の共存で核内に移行した。この現象には、CC ドメインが必須であった。

これらの結果は、CC ドメインを介した DMAP1 との相互作用によって、RMP/URI の細胞内局在の制御が示され、DMAP1 の共存によって RMP/URI の核内でのコレプレッサー機能が示唆された。本研究は、転写装置と相互作用する新規因子 RMP/URI の機能制御の局面と、HBx による転写制御機構の理解を助ける新しい知見であり、学位に値する労作と評価された。